

*Jurnal*  
**TANAMAN INDUSTRI  
 DAN PENYEGAR**  
 Journal of Industrial and Beverage Crops  
 Volume 5, Nomor 2, Juli 2018

**PENGARUH DOSIS DAN FREKUENSI APLIKASI BIOFUNGISIDA *Trichoderma*  
 TERHADAP INFEKSI *Rigidoporus microporus* PADA BENIH KARET**

***EFFECT OF DOSAGE AND APPLICATION FREQUENCIES OF Trichoderma BIOFUNGICIDE ON  
 Rigidoporus microporus INFECTION IN RUBBER***

\* Widi Amaria, Rita Harni, dan Edi Wardiana

**Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar**  
 Jalan Raya Pakuwon Km 2 Parungkuda, Sukabumi 43357 Indonesia  
 \* w\_amarial@yahoo.com

(Tanggal diterima: 21 Maret 2018, direvisi: 11 April 2018, disetujui terbit: 31 Juli 2018)

**ABSTRAK**

Agens hayati *Trichoderma virens* dan *T. amazonicum* sedang dikembangkan dan telah diuji keefektifannya secara *in vitro* dan *in vivo* terhadap *Rigidoporus microporus* penyebab penyakit jamur akar putih (JAP) pada tanaman karet. Peningkatan keefektifan agens hayati tersebut dapat diketahui melalui pengujian dosis dan frekuensi aplikasi. Tujuan penelitian adalah menentukan dosis dan frekuensi aplikasi biofungisida *Trichoderma* spp. yang efektif dalam menekan infeksi *R. microporus* pada benih karet. Penelitian dilaksanakan di laboratorium dan rumah kaca Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Balittri), Sukabumi, mulai bulan Juni sampai Desember 2014. Percobaan menggunakan rancangan acak kelompok dengan 14 perlakuan, yaitu kombinasi antara jenis biofungisida (*T. virens* dan *T. amazonicum*), dosis (25, 50, dan 75 g), frekuensi aplikasi (1 dan 2 kali), pembandingan positif (biofungisida komersial), dan pembandingan negatif (tanpa biofungisida), masing-masing diulang 3 kali. Benih tanaman karet dalam polybag yang digunakan berasal dari biji propelegitim klon GT 1. Perbanyakkan *Trichoderma* spp. menggunakan metode fermentasi pada media cair, sedangkan formulasi biofungisida menggunakan bahan pembawa talk. Pengamatan meliputi populasi *Trichoderma* spp., masa inkubasi, intensitas penyakit, dan penekanan serangan JAP. Hasil penelitian menunjukkan bahwa biofungisida berbahan aktif *T. virens* dan *T. amazonicum* dengan dosis 50 g/tanaman satu kali aplikasi cukup efektif dalam menekan perkembangan infeksi *R. microporus* pada benih karet. Kombinasi antara jenis biofungisida, dosis, dan frekuensi aplikasi, terbukti meningkatkan populasi *Trichoderma* spp. dalam tanah, memperlambat masa inkubasi patogen, menurunkan intensitas penyakit JAP, dan dapat menekan serangan penyakit JAP.

**Kata kunci:** Biofungisida, dosis, frekuensi aplikasi, jamur akar putih, *Trichoderma*

**ABSTRACT**

Biological agents *Trichoderma virens* and *T. amazonicum* have been developed and examined for their effectiveness through *in vitro* and *in vivo* approaches against *Rigidoporus microporus*, the cause of white root disease (WRD) in rubber. The effectiveness of these bio-agents can be determined by testing the dosage and frequency of *Trichoderma* spp. biofungicide application. The research aimed to investigate the effective dose and application frequency of *Trichoderma* spp. biofungicide on *R. microporus* infection in rubber seedling. The experiment was conducted in laboratory and screen house of Indonesian Industrial and Beverage Crops Research Institute (IIBCRI), Sukabumi, from June to December 2014. A randomized block design was used with 14 treatments and 3 replications, i.e biofungicide combination (*T. virens* and *T. amazonicum*), dosage (25, 50, and 75 g), application frequencies (1 and 2 times application), and two controls (positive and negative). Rubber seedlings used were propelegitim seeds of GT1 clone planted in polybags. *Trichoderma* spp. was multiplied using fermentation method in liquid medium, whereas biofungicide was formulated using talc as carrier. Observed variables including *Trichoderma* spp. population number, incubation period, attack intensity, and WRD attack suppression. The results showed that *T. virens* and *T. amazonicum* biofungicides with 50 g/plant dose at one application was the most effective and efficient in suppressing *R. microporus* development on rubber seedlings. The type, dosage, and frequencies of

application increased *Trichoderma* spp. population in soil, prolonged the pathogen's incubation period, decreased WRD attack intensity, and suppress the attack of WRD disease.

**Keywords:** Application frequency, biofungicide, dosage, *Trichoderma*, white root disease

## PENDAHULUAN

*Rigidoporus microporus* merupakan patogen penyebab penyakit jamur akar putih (JAP) pada tanaman karet. Patogen ini menginfeksi perakaran tanaman melalui mekanisme penetrasi, kolonisasi, dan degradasi (Omorusi *et al.*, 2014). *R. microporus* dapat menginfeksi tanaman karet sejak di tingkat pembenihan sampai tanaman di lapangan. Penularan di lapangan umumnya terjadi melalui kontak antara akar tanaman sakit dengan yang sehat. Infeksi patogen pada benih karet mengakibatkan akar menghitam, membusuk, kemudian mati. Apabila akar tunggang telah mati dan akar-akar cabang terlepas maka benih karet akan mengering dan mati (Amaria & Wardiana, 2014).

Perkembangan infeksi *R. microporus* pada benih karet dapat ditekan dengan penggunaan jamur antagonis *Trichoderma*. Dua isolat *Trichoderma*, yaitu *T. virens* dan *T. amazonicum*, yang berasal dari daerah Lampung telah diuji keefektifannya secara *in vitro* dan *in vivo*, masing-masing dapat menghambat perkembangan koloni *R. microporus* sebesar 84,6% dan 86% (Amaria, Taufiq, & Harni, 2013). Pada tingkat pembenihan, aplikasi kedua isolat tersebut, sebelum maupun setelah infeksi patogen, secara nyata dapat menekan tingkat serangan JAP lebih baik dibandingkan dengan *T. hamatum* dan *T. atroviride* (Amaria & Wardiana, 2014). Pengujian biofungisida berbahan aktif kedua jenis *Trichoderma* tersebut dengan bahan pembawa talk menunjukkan kemampuan penekanan terhadap penyakit JAP pada benih karet relatif lebih baik dibandingkan dengan bahan pembawa molase dan kompos (Amaria, Soesanthi, & Ferry, 2016). Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa aplikasi biofungisida *T. virens* (Tv1) dengan bahan pembawa talk yang diaplikasikan melalui perlakuan benih (*seed treatment*) tomat secara nyata dapat mengurangi kejadian penyakit layu fusarium sebesar 54,66% (Christopher, Raj, Rani, & Udhayakumar, 2010) dan pada tanaman tomat efektif menekan kejadian penyakit layu fusarium sebesar 15,33%–25,50% (Sundaramoorthy & Balabaskar, 2013). Aplikasi biofungisida *T. viride*, *T. harzianum*, *Paecilomyces lilacinus*, dan *Bacillus subtilis* yang dikombinasikan dengan pupuk hayati dapat menurunkan intensitas penyakit JAP sebesar 5,56% (Kusdiana, Munir, & Suryaningtyas, 2015). Pengendalian JAP pada tanaman karet dewasa menggunakan biofungisida endohevea (*T. koningii*, *T. viride*, dan *T. harzianum*) dengan dosis 1 tablet per 5 tanaman yang diulang setiap 3 bulan, terbukti lebih

efektif dan efisien dalam menekan serangan JAP dengan tingkat persentase kesembuhan penyakit mencapai 78,94% (Fairuzah, Dalimunthe, Karyudi, Suryaman, & Widhayati, 2014).

Penelitian keefektifan *Trichoderma* spp. dalam bentuk suspensi (Amaria & Wardiana, 2014) maupun yang sudah dalam bentuk biofungisida (Amaria *et al.*, 2016) terhadap penyakit JAP baru terbatas pada satu dosis tertentu dengan satu kali aplikasi. Masih terbuka peluang untuk meningkatkan keefektifan biofungisida *Trichoderma* spp. terhadap penyakit JAP melalui penentuan dosis dan frekuensi aplikasi yang optimal. Penelitian bertujuan menentukan dosis dan frekuensi aplikasi biofungisida *Trichoderma* spp. yang efektif dalam menekan infeksi *R. microporus* pada benih karet.

## BAHAN DAN METODE

Percobaan dilaksanakan di laboratorium dan rumah kaca Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Balittri), Sukabumi, mulai Juni sampai Desember 2014. Isolat *Trichoderma* yang digunakan adalah *T. virens* dan *T. amazonicum*, merupakan koleksi Balittri yang telah diuji keefektifannya secara *in vitro* dan *in vivo* terhadap patogen *R. microporus* pada tanaman karet (Amaria *et al.*, 2013; Amaria & Wardiana, 2014; Amaria, Harni, & Samsudin, 2015; Amaria *et al.*, 2016). Isolat patogen yang digunakan adalah *R. microporus* yang berasal dari Balai Penelitian Sembawa, Pusat Penelitian Karet, Palembang.

### Perbanyakan Patogen

Perbanyakan patogen *R. microporus* dilakukan dengan menggunakan media kayu karet (Suwandi, 2008). Pada tahap awal dipersiapkan biakan murni isolat *R. microporus* pada media *potato dextrose agar* (PDA) di dalam cawan petri. Tahap selanjutnya dibuat media perbanyakan patogen, yaitu beberapa potongan kayu karet berukuran 12 cm x 1 cm x 1 cm yang ditambah dengan media *malt extract agar* (MEA) pada kantong plastik tahan panas berukuran 20 x 40 cm (kapasitas 1 kg) dan disterilisasi. Media perbanyakan selanjutnya diinokulasi dengan isolat *R. microporus* dari biakan murni secukupnya dan diinkubasi pada suhu ruang.

### Perbanyakan Agens Hayati *Trichoderma* spp.

Isolat *T. virens* dan *T. amazonicum* merupakan koleksi kultur Balittri. Biakan murni isolat antagonis *T.*

*virens* dan *T. amazonicum* yang berumur 5 hari pada media PDA dibiakkan dalam media cair *potato dextrose broth* (PDB). Media PDB sebanyak 800 ml dimasukkan ke dalam erlenmeyer 1.000 ml dan disterilisasi dengan autoklaf (120°C; 20 menit). Perbanyak 2 isolat *Trichoderma* spp. pada media cair dilakukan dengan metode fermentasi, menggunakan rangkaian fermentor sederhana yang terdiri atas: (1) aerator, (2) *glasswool*, (3)  $\text{KMNO}_4$ , (4) media cair PDB, dan (5) akuades. Biakan diinkubasi selama 10 hari pada suhu ruang, selanjutnya dihitung jumlah konidia sampai  $10^8$  konidia/ml dengan *haemocytometer* dan *compound microscope*.

### Formulasi Biofungisida *Trichoderma* spp.

Formulasi *T. virens* dan *T. amazonicum* mengikuti metode Sriram, Roopa, & Savitha (2011) dan Amaria *et al.* (2016). Formula dibuat dalam bentuk tepung dengan cara mencampur 500 ml biakan *T. virens* atau *T. amazonicum* dengan 1 kg talk steril dan 50 g *carboxymethyl cellulose* (CMC), diaduk merata, kemudian dikeringanginkan sampai kadar air mencapai 5%, dan diayak menggunakan ayakan tepung berukuran 80 mesh. Kedua formula tepung *Trichoderma* spp. tersebut selanjutnya dikemas dalam plastik bening dan ditutup dengan *sealer*.

### Pengujian Biofungisida

Benih tanaman karet yang digunakan berasal dari biji propelegitim klon GT 1 yang rentan terhadap *R. microporus*. Benih karet ditanam dalam kantong plastik hitam (polybag) berisi media tumbuh 3 kg (tanah dan bahan organik dengan perbandingan 3:1). Sebelum digunakan, media tumbuh disterilkan menggunakan autoklaf (120°C; 20 menit). Benih karet dipelihara di rumah kaca sampai berumur 60 hari.

Benih karet yang sudah berumur 60 hari diinokulasi dengan kultur *R. microporus* mengikuti metode yang telah dilakukan Suwandi (2008), yaitu dengan cara meletakkan dua potongan kayu yang telah ditumbuhi miselium *R. microporus* ke dalam lubang yang berjarak 3 cm dari pangkal batang karet. Dua minggu setelah inokulasi *R. microporus*, dilakukan aplikasi biofungisida *Trichoderma* spp. dengan cara menaburkan biofungisida di sekeliling pangkal batang benih karet pada jarak 3 cm dan kedalamannya 3 cm.

Percobaan menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) dengan 14 perlakuan dan 3 ulangan. Setiap petak percobaan terdiri atas 10 benih karet. Ke-14 perlakuan tersebut terdiri dari kombinasi 2 biofungisida isolat *Trichoderma* spp. (*T. virens* dan *T. amazonicum*), 3 dosis aplikasi (25, 50, dan 75 g/tanaman), 2 frekuensi aplikasi (1 dan 2 kali), dan pembandingan, yaitu pembandingan positif (biofungisida

komersial yang mengandung *T. koningii* pada dosis 75 g/tanaman dengan 1 kali aplikasi) dan pembandingan negatif (benih yang tidak diinokulasi *Trichoderma* spp.).

### Pengamatan dan Analisis Data

Peubah yang diamati meliputi:

- Jumlah populasi *Trichoderma* spp. dalam tanah, diamati setiap 30 hari (setiap bulan) mulai dari 1 sampai 4 bulan setelah aplikasi (BSA) dengan cara mengambil sampel tanah untuk setiap unit percobaan, kemudian diisolasi di laboratorium menggunakan metode *serial dilution plate* (Bendavid & Davidson, 2014; Thomas, Sekhar, Upreti, Mujawar, & Pasha, 2015) pada media selektif *Trichoderma*. Sampel tanah sebanyak 10 g diencerkan dengan 90 ml akuades pada erlenmeyer 250 ml, kemudian dicampur hingga homogen. Selanjutnya, diambil 1 ml suspensi dan dicampur dengan 9 ml akuades pada tabung reaksi (pengenceran  $10^{-1}$ ), demikian seterusnya sampai pengenceran mencapai  $10^{-3}$ . Setiap suspensi pada seri pengenceran diambil 1 ml dan dicampur merata pada media selektif *Trichoderma*, diinkubasi selama 5 hari pada suhu kamar dan dihitung jumlah koloninya (*colony forming unit/cfu*). Populasi *Trichoderma* spp. dihitung dengan cara seperti yang telah dilakukan oleh Wirawan, Djauhari, & Sulistyowati (2014) sebagai berikut:

$$Pb = Jk \times 1/Fp ; Fp = p \times Vs$$

Keterangan:

Pb = populasi jamur (cfu/ml)  
Jk = jumlah koloni  
Fp = faktor pengenceran  
p = pengenceran  
Vs = volume suspensi yang ditumbuhkan (ml) dalam cawan petri

- Masa inkubasi, yaitu waktu yang dibutuhkan dari mulai inokulasi sampai gejala JAP muncul pertama kali.
- Intensitas penyakit JAP, diamati setiap bulan mulai dari 1 sampai 4 BSA dengan menggunakan rumus Boggie & Person (1988) sebagai berikut:

$$I = \frac{\sum(n \times v)}{Z \times N} \times 100\%$$

Keterangan:

I = intensitas penyakit  
n = jumlah tanaman pada skala serangan ke-v  
v = nilai skala serangan

- Z = nilai skala dari serangan tertinggi  
N = jumlah tanaman yang diamati  
Nilai skala kategori serangan menurut Fairuzah *et al.* (2014) sebagai berikut:  
Skala 0 = akar tanaman bebas dari serangan patogen *R. microporus*  
Skala 1 = akar tanaman ditumbuhi miselium *R. microporus* tetapi terbatas pada permukaan kulit  
Skala 2 = miselium telah melekat kuat pada kulit dan diperkirakan sudah masuk ke kayu  
Skala 3 = bagian kulit dan kayu telah membusuk  
Skala 4 = tanaman mati

- d. Penekanan serangan JAP, dihitung pada 4 BSA yang diperoleh dari data intensitas penyakit dibandingkan dengan kontrol negatif (tanpa perlakuan biofungisida).

Data yang diperoleh kemudian dianalisis ragam. Apabila terdapat beda nyata antar perlakuan maka dilanjutkan dengan uji beda rata-rata perlakuan menggunakan uji Tukey pada taraf 5%. Di samping itu, dilakukan juga analisis korelasi antar peubah yang diamati.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Perkembangan Populasi *Trichoderma* spp.

Hasil analisis menunjukkan populasi *Trichoderma* spp. dalam tanah pada 1–4 BSA tidak berbeda nyata antara semua perlakuan biofungisida yang diuji dengan pembanding positif (biofungisida

komersial) yang berbahan aktif *T. koningii*. Demikian juga antar perlakuan jenis dan aplikasi biofungisida tidak menunjukkan perbedaan, kecuali biofungisida *T. amazonicum* dengan dosis 75 g dan 2 kali aplikasi, serta kelimpahan populasi  $5,20 \times 10^4$  cfu/g tanah lebih tinggi dibandingkan dengan biofungisida yang sama pada dosis 25 g dengan 1 kali aplikasi ( $2,73 \times 10^4$  cfu/g tanah) dan 2 kali aplikasi ( $2,70 \times 10^4$  cfu/g tanah) pada 4 BSA (Tabel 1).

Semua jenis dan aplikasi biofungisida memperlihatkan laju perkembangan populasi *Trichoderma* spp. yang meningkat mulai dari 1 hingga 4 BSA. Laju perkembangan tersebut bervariasi antar jenis dan frekuensi aplikasi (12,20%–25,60% per bulan) dengan rata-ratanya 17,30% per bulan (Tabel 1). Hal ini mengindikasikan bahwa aplikasi biofungisida yang dilakukan berjalan dengan baik karena kemungkinan juga didukung oleh faktor lingkungan, seperti pH, suhu, aerasi, dan nutrisi yang optimal sehingga populasi *Trichoderma* spp. dalam tanah dapat tumbuh dan berkembang dengan baik.

Adanya variasi laju perkembangan populasi *Trichoderma* untuk semua perlakuan mengindikasikan sedang berlangsungnya proses kompetisi, antibiosis, maupun parasitisme antara *Trichoderma* dengan patogen penyakit. Laju perkembangan populasi yang positif menandakan bahwa *Trichoderma* telah mampu bersaing dengan patogen penyakit. Hasil penelitian Amaria *et al.* (2015) menunjukkan bahwa mekanisme *T. virens* dan *T. amazonicum* dalam menghambat pertumbuhan *R. microporus* adalah kompetisi, antibiosis, dan parasitisme.

Tabel 1. Populasi *Trichoderma* spp. dalam tanah pada 1–4 bulan setelah aplikasi (BSA)  
Table 1. *Trichoderma* spp. population in the soil at 1–4 months after application (MAA)

Jenis isolat	Dosis (g/tanaman)	Frekuensi aplikasi	Populasi <i>Trichoderma</i> spp. ( $\times 10^4$ cfu/g tanah)				Laju perkembangan populasi (%/bulan)**
			1 BSA*	2 BSA*	3 BSA*	4 BSA	
<i>T. virens</i>	25	1	1,70	2,23	2,73	2,83 ab	13,00
		2	1,60	2,93	3,07	3,37 ab	18,10
	50	1	2,97	2,97	3,47	3,53 ab	16,30
		2	3,77	4,23	4,43	5,00 ab	13,30
	75	1	2,50	3,03	3,43	4,10 ab	17,30
		2	3,67	3,07	4,77	4,90 ab	18,00
<i>T. amazonicum</i>	25	1	1,40	2,23	2,57	2,73 b	14,40
		2	1,33	1,97	2,27	2,70 b	14,70
	50	1	2,03	2,90	3,13	3,30 ab	13,40
		2	2,80	3,13	4,03	4,97 ab	24,70
	75	1	3,67	4,23	4,40	4,83 ab	12,20
		2	3,03	3,30	3,97	5,20 a	23,90
Pembanding positif (biofungisida komersial)	75	1	2,30	3,17	3,93	4,60 ab	25,60
Pembanding negatif (tanpa <i>Trichoderma</i> spp.)	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada setiap kolom tidak berbeda nyata menurut uji Tukey taraf 5%; BSA = bulan setelah aplikasi; \*tidak nyata; \*\*diestimasi dengan regresi linier ( $p < 0,05$ )

Notes : Numbers followed by the same letters in each column are not significantly different according to Tukey test at 5% level; MAA = months after application; \*not significant; \*\*estimated by linear regression ( $p < 0,05$ )

Perkembangan populasi *Trichoderma* di dalam tanah dipengaruhi oleh berbagai faktor biotik dan abiotik yang saling berinteraksi secara kompleks. Beberapa faktor yang dimaksud di antaranya adalah kondisi vegetasi, tipe penggunaan lahan, serta kondisi fisik dan kimia tanah yang meliputi pH, suhu, aerasi, dan nutrisi (Okoth, Okoth, & Muya, 2009; Ali, Yasser, Mousa, & Khalek, 2012; Berlian, Setyawan, & Hadi, 2013; Gupta & Sharma, 2013; Muniappan & Muthukumar, 2014; Reetha, Bhuvaneswari, Selvakumar, Thamizhiniyan, & Pathmavathi, 2014; Singh *et al.*, 2014; Maina, Wachira, Okoth, Kimenju, & Otipa, 2015; Zehra, Dubey, Meena, & Upadhyay, 2017). *Trichoderma* membutuhkan nutrisi berupa unsur C dan N sebagai sumber energi untuk meningkatkan jumlah dan viabilitas konidia (Khattabi, Ezzahiri, Louali, & Oihabi, 2004; Ali *et al.*, 2012; Rajput, Khanzada, & Shahzad, 2014), serta unsur P yang dapat meningkatkan persentase kolonisasi *Trichoderma* (Promwee, Issarakraisila, Intana, Chamswarn, & Yenjit, 2014). Perkembangan populasi *Trichoderma* dalam tanah setelah

aplikasi sangat penting untuk mendukung kemampuannya dalam menekan serangan penyakit. Jamur antagonis yang mempunyai persistensi tinggi dan mampu beradaptasi dengan baik akan lebih berpotensi menghambat perkembangan jamur patogen sehingga dapat menekan serangan penyakit.

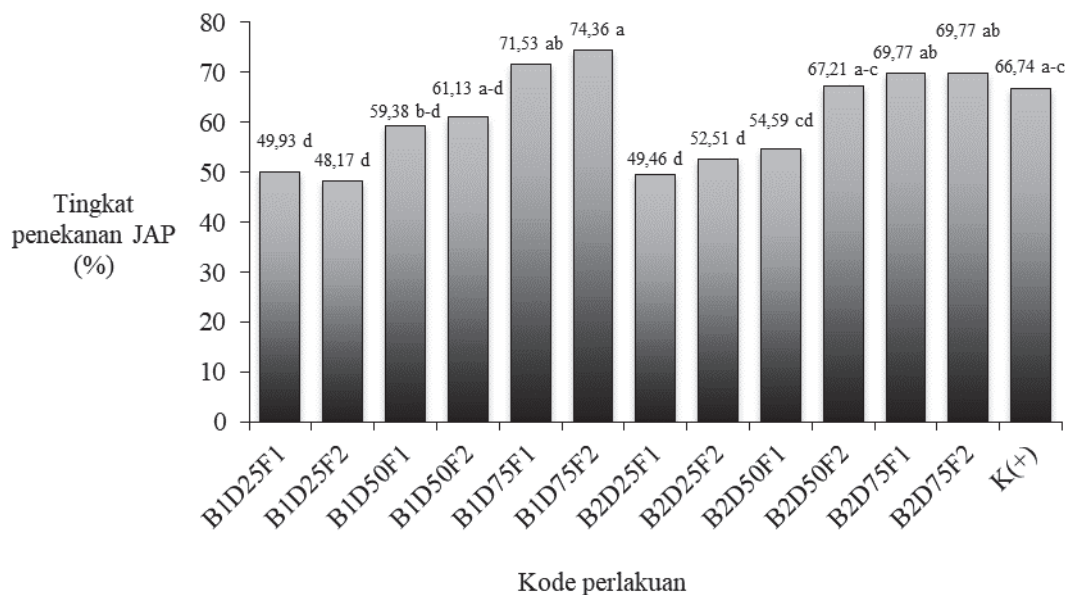
### Pengaruh Biofungisida *Trichoderma* spp. terhadap Perkembangan Penyakit Jamur Akar Putih (JAP)

Masa inkubasi patogen tidak berbeda nyata antar perlakuan jenis dan aplikasi biofungisida maupun dengan pembanding positif (biofungisida komersial). Sementara itu, beberapa perlakuan, yaitu biofungisida *T. virens* (dosis 50 g dengan 2 kali aplikasi serta dosis 75 g dengan 1 dan 2 kali aplikasi) dan biofungisida *T. amazonicum* (dosis 75 g dengan 1 dan 2 kali aplikasi), menyebabkan masa inkubasi patogen nyata lebih lama dibandingkan dengan pembanding negatif (tanpa biofungisida) (Tabel 2).

Tabel 2. Masa inkubasi patogen dan intensitas penyakit jamur akar putih (JAP) pada 1–4 bulan setelah aplikasi (BSA)  
Table 2. Incubation periods of pathogen and attack intensity of white root disease (WRD) at 1–4 months after application (MAA)

Jenis isolat	Dosis (g/tanaman)	Frekuensi aplikasi	Masa inkubasi patogen (hari)	Intensitas penyakit JAP (%)				Laju intensitas penyakit (%/bulan)**
				1 BSA*	2 BSA	3 BSA	4 BSA	
<i>T. virens</i>	25	1	63,80 bc	4,49	16,02 b	19,87 bc	22,44 bc	19,20
		2	65,08 abc	3,85	12,18 b	19,23 bcd	23,08 b	21,60
	50	1	63,95 bc	5,13	12,82 b	17,95 bcde	17,95 bcdef	14,50
		2	86,31 ab	5,13	12,82 b	15,38 bcde	17,31 bcdef	13,00
	75	1	81,59 ab	5,13	10,47 b	11,54 ef	12,82 ef	8,05
		2	89,18 ab	5,13	10,26 b	11,11 f	11,33 f	6,48
<i>T. amazonicum</i>	25	1	60,51 bc	7,69	16,03 b	21,15 b	22,44 bc	16,50
		2	65,46 abc	4,49	12,18 b	20,51 b	21,15 bcd	19,40
	50	1	71,08 abc	8,33	14,10 b	19,87 bc	19,87 bcde	13,50
		2	71,03 abc	7,69	10,90 b	13,46 cdef	14,74 cdef	7,90
	75	1	82,28 ab	7,69	11,54 b	12,82 def	13,46 def	6,19
		2	97,92 a	8,97	10,90 b	12,18 ef	13,46 def	4,91
Pembanding positif (biofungisida komersial)	75	1	65,90 abc	7,05	12,18 b	12,82 def	14,74 cdef	7,90
Pembanding negatif (tanpa <i>Trichoderma</i> spp.)	-	-	48,00 c	10,90	26,93 a	35,90 a	45,51 a	37,60

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada setiap kolom tidak berbeda nyata menurut uji Tukey taraf 5%; BSA = bulan setelah aplikasi; \*tidak nyata; \*\*diestimasi dengan regresi linier ( $p < 0,05$ )  
Notes : Numbers followed by the same letters in each column are not significantly different according to Tukey test at 5% level; MAA = months after application \*not significant; \*\*estimated by linear regression ( $p < 0,05$ )



Gambar 1. Tingkat penekanan penyakit jamur akar putih (JAP) pada 4 bulan setelah aplikasi (4 BSA). B = isolat *Trichoderma* spp. (B1 = *T. virens*; B2 = *T. amazonicum*), D = dosis per tanaman (D25 = 25 g; D50 = 50 g; D75 = 75 g), F = frekuensi aplikasi (F1 = satu kali; F2 = dua kali), K(+) = pembanding positif (biofungisida komersial dosis 75 g/tanaman, 1 kali aplikasi).

Figure 1. The suppression level of white root disease (WRD) at 4 months after application (MAA). B = *Trichoderma* spp. isolates (B1 = *T. virens*; B2 = *T. amazonicum*), D = dosages per plant (D25 = 25 g; D50 = 50 g; D75 = 75 g), F = application frequency (F1 = one time; F2 = two times), K(+) = positive control (a commercial biofungicide at a dose of 75 g/plant, one time application).

Berdasarkan Tabel 2 dapat diketahui bahwa semua jenis dan aplikasi biofungisida yang diuji menghasilkan intensitas penyakit JAP yang nyata lebih rendah dibandingkan dengan pembanding negatif (tanpa biofungisida) pada 1–4 BSA. Akan tetapi, hanya biofungisida *T. virens* dosis 25 g dengan 1 kali aplikasi, biofungisida *T. amazonicum* dosis 25 g dengan 1 dan 2 kali aplikasi, dan biofungisida *T. amazonicum* dosis 50 g dengan 1 kali aplikasi pada 3 BSA yang nyata lebih rendah dibandingkan dengan pembanding positif (biofungisida komersial).

Seluruh perlakuan yang diuji, baik perlakuan aplikasi biofungisida maupun tanpa biofungisida (pembanding negatif), memperlihatkan adanya perkembangan intensitas penyakit JAP mulai dari 1 hingga 4 BSA, dengan laju perkembangan sangat bervariasi (4,91%–37,6% per bulan) dengan rata-rata 14,10% per bulan (Tabel 2). Laju intensitas penyakit yang bervariasi merupakan salah satu indikator yang menunjukkan fluktuasi dampak dari berlangsungnya proses kompetisi, antibiosis, maupun parasitisme antara *T. virens* dan *T. amazonicum* dengan *R. microporus* seperti yang telah dilaporkan oleh Amaria *et al.* (2015).

Semua perlakuan jenis dan frekuensi aplikasi biofungisida yang diuji dapat menekan serangan penyakit JAP sebesar 48,17%–69,77% pada 4 BSA, sedangkan biofungisida komersial mampu menekan

penyakit sebesar 66,76%. Tingkat penekanan penyakit untuk kedua biofungisida yang diuji (*T. virens* dan *T. amazonicum*) pada dosis 25 g/tanaman dengan 2 kali aplikasi ternyata lebih rendah (masing-masing 48,17% dan 52,51%) dibandingkan dengan biofungisida komersial pada dosis 75 g/tanaman dengan 1 kali aplikasi (Gambar 1).

Berdasarkan data perkembangan masa inkubasi patogen serta intensitas dan tingkat penekanan penyakit (Tabel 2 dan Gambar 1), perlakuan biofungisida *T. virens* dan *T. amazonicum* dengan dosis 50 g atau 75 g/tanaman, baik yang diaplikasikan 1 maupun 2 kali, tidak berbeda nyata dengan kontrol positif (biofungisida komersial), tetapi nyata lebih baik dibandingkan kontrol negatif (tanpa perlakuan biofungisida). Pada dosis 25 g/tanaman terjadi inkonsistensi untuk parameter intensitas penyakit jika dibandingkan dengan biofungisida komersil terutama pada 3 dan 4 BSA, meskipun dilihat dari tingkat penekanannya pada 4 BSA nyata lebih rendah. Oleh karena itu, untuk meningkatkan keefektifan dan efisiensi pengendalian penyakit JAP pada tanaman karet di tingkat pembenihan dapat direkomendasikan penggunaan salah satu atau kedua biofungisida tersebut (*T. virens* atau *T. amazonicum*) pada dosis 50 g/tanaman dengan 1 kali aplikasi. Dosis aplikasi tersebut memiliki tingkat keefektifan yang sama dengan dosis 75 g/tanaman,

tetapi ditinjau dari jumlah biofungisida yang digunakan lebih sedikit (efisien). Penggunaan dosis aplikasi tersebut dapat meningkatkan populasi *Trichoderma* spp. dalam tanah sebesar 13,40%–16,30%/bulan (Tabel 1), memperlambat masa inkubasi patogen dari 48 hari menjadi 63,95–71,08 hari (Tabel 1), menurunkan laju intensitas serangan penyakit JAP dari 37,60%/bulan menjadi 13,50%–14,50%/bulan (Tabel 2), dan menekan serangan penyakit JAP sebesar 54,59%–59,38% (Gambar 1).

Populasi dan viabilitas *Trichoderma* akan meningkat bila faktor lingkungan tumbuh dalam kondisi optimal. Di samping itu, mekanisme antagonis *Trichoderma* seperti kompetisi, antibiosis, dan parasitisme terhadap patogen juga akan meningkat (Gupta *et al.*, 2014). Selama berlangsungnya proses-proses tersebut, *Trichoderma* dapat menghasilkan metabolit sekunder berupa antibiotik atau senyawa dan enzim tertentu yang dapat menyebabkan patogen tidak dapat berkembang dengan baik.

Beberapa metabolit sekunder dan antibiotik yang dihasilkan oleh *Trichoderma* di antaranya adalah *harzianic acid*, *alamethicins*, *peptaibols* (*trichor-zianine*), *6-penthyll- $\alpha$ -pyrone*, *viridin*, *gliovirin*, *glio-toxin*, *heptelidic acid* atau *koningic acid*, *isocyano derivatives* (*dermadin acid*), *diketopiperazine-like compounds* (*NRPs*), *polyketides*, *pyriones*, dan *terpenes* (Mukherjee, Horwitz, & Kenerley, 2012; Mukherjee *et al.*, 2012; Hermosa, Cardoza, Rubio, Gutierrez, & Monte, 2014). Dua kelas dari metabolit sekunder jenis *peptaibols*, yaitu *11-residue* dan *14-residue*, telah dihasilkan oleh *T. virens* (Mukherjee *et al.*, 2011). Antibiotik yang dihasilkan oleh *T. viride*, di antaranya adalah *trichodermin*, *dermadin*, *trichoviridin*, *sesquiterpene*, dan *heptalic acid* (Nakkeeran, Krishnamoorthy, Ramamoorthy, & Renukadevi, 2002). Hasil penelitian lainnya menunjukkan bahwa mekanisme antagonis *T. harzianum* VSL291 mampu memproduksi *lytic enzymes*, yaitu  $\beta$ -1,3-*glucanases*, *chitinases*, *proteases*, *xylanases* untuk menghambat patogen pada buah kakao (Cuervo-parra, Ramirez-Suero, Sánchez-López, & Ramirez-Lepe, 2011). Metabolit sekunder yang dihasilkan *Trichoderma*, di samping berfungsi sebagai penghambat perkembangan patogen, juga dapat berfungsi dalam menginduksi ketahanan tanaman terhadap patogen dan sebagai *bio-fertilizer* (Vinale *et al.*, 2014).

Hasil penelitian *in vitro* Amaria *et al.* (2015) menunjukkan bahwa *T. virens* dan *T. amazonicum* menghasilkan metabolit sekunder yang mampu menghambat perkembangan koloni *R. microporus*.

Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *T. virens* dan *T. amazonicum* juga telah diaplikasikan pada bibit kakao, dengan penekanan intensitas penyakit VSD masing-masing sebesar 63,2% dan 81,8% (Harni, Amaria, Syafaruddin, & Mahsunah, 2017).

### Korelasi antara Populasi *Trichoderma* spp., Masa Inkubasi Patogen, dan Intensitas Penyakit Jamur Akar Putih (JAP)

Tabel 3 memperlihatkan korelasi antara populasi *Trichoderma* spp. dalam tanah, masa inkubasi patogen, dan intensitas penyakit JAP pada 1–4 BSA. Terdapat korelasi positif yang nyata sebesar 0,61–0,92 pada populasi *Trichoderma* spp. dalam tanah antar keempat umur pengamatan. Hal ini mengindikasikan bahwa *T. virens* dan *T. amazonicum* yang diuji telah mampu beradaptasi dengan baik pada kondisi lingkungan penelitian.

Daya adaptasi dan perkembangan *Trichoderma* spp. yang baik dapat menghambat perkembangan infeksi *R. microporus*, baik pada tahap penetrasi, kolonisasi maupun pada tahap degradasi, sehingga dapat berdampak pada lamanya masa inkubasi patogen. Hal ini ditunjukkan oleh nilai korelasi positif yang nyata sebesar 0,39–0,46 antara populasi *Trichoderma* dengan masa inkubasi patogen. Peningkatan populasi *Trichoderma* spp. dan lamanya masa inkubasi patogen dapat mengakibatkan turunnya tingkat intensitas penyakit JAP pada benih karet. Hal ini ditunjukkan oleh nilai korelasi negatif nyata sebesar 0,42–0,92 antar ketiga peubah tersebut.

Hasil penelitian pada ekosistem tanaman karet di daerah Lampung menunjukkan bahwa dengan semakin meningkatnya diversitas dan populasi jamur menyebabkan kejadian penyakit JAP semakin menurun (Prasetyo, Aeny, & Suharjo, 2009), dan hasil penelitian lainnya juga menunjukkan bahwa kolonisasi *Trichoderma* yang semakin meningkat dapat mendukung terhadap pertumbuhan tanaman karet (Promwee *et al.*, 2014). Hasil penelitian lain yang dilakukan pada benih tanaman tembakau menunjukkan bahwa meningkatnya populasi *Trichoderma* dalam tanah berdampak terhadap menurunnya intensitas penyakit yang disebabkan oleh *Rhizoctonia solani* (Gveroska, 2013). Peningkatan populasi *Trichoderma* dalam tanah juga menyebabkan penurunan jumlah patogen pada tanaman stroberi sehingga produksi buahnya jadi meningkat (Santos, Barrau, Blanco, Arroyo, & Porras, 2003).

Tabel 3. Korelasi antara populasi *Trichoderma* spp., masa inkubasi patogen, dan intensitas penyakit jamur akar putih (JAP)  
Table 3. Correlations between *Trichoderma* spp. population, incubation periods of pathogen, and attack intensity of white root disease (WRD)

Peubah yang dikorelasikan	Populasi <i>Trichoderma</i> (PT)				Masa inkubasi (MI)	Intensitas penyakit (IP)			
	1 BSA	2 BSA	3 BSA	4 BSA		1 BSA	2 BSA	3 BSA	4 BSA
PT (1 BSA)	-	0,61**	0,68**	0,65**	0,46**	0,01	-0,25	-0,45**	-0,54**
PT (2 BSA)		-	0,65**	0,66**	0,34**	0,21	-0,14	-0,26	-0,29
PT (3 BSA)			-	0,92**	0,39**	0,27	-0,31	-0,50**	-0,55**
PT (4 BSA)				-	0,42**	0,27	-0,42**	-0,62**	-0,65**
MI					-	-0,04	-0,18	-0,42**	-0,44**
IP (1 BSA)						-	0,22	0,05	-0,22
IP (2 BSA)							-	0,61**	0,55**
IP (3 BSA)								-	0,92**
IP (4 BSA)									-

Keterangan: \* dan \*\* masing-masing nyata pada taraf 5 dan 1%; BSA = bulan setelah aplikasi

Notes : \* and \*\* significant at 5 and 1% levels, respectively; MAA = months after application

## KESIMPULAN

Biofungisida berbahan aktif *T. virens* dan *T. amazonicum* dengan dosis 50 g/tanaman dalam satu kali aplikasi cukup efektif menekan infeksi *R. microporus* pada benih karet. Biofungisida dengan jenis, dosis, dan frekuensi aplikasi tersebut dapat meningkatkan populasi *Trichoderma* spp. dalam tanah dengan laju peningkatan 13,40%–16,30%/bulan, memperpanjang masa inkubasi patogen dari 48 hari menjadi 63,95–71,08 hari, menurunkan laju intensitas penyakit JAP dari 37,60%/bulan menjadi 13,50%–14,50%/bulan, dan dapat menekan serangan penyakit JAP sebesar 54,59%–59,38%.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Bapak Sumantri sebagai Teknisi Litkayasa di Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian serta pengumpulan data. Penelitian ini didanai oleh DIPA Balittri T.A 2014.

## DAFTAR PUSTAKA

Ali, M. I., Yasser, M. M., Mousa, A. S., & Khalek, M. A. (2012). Optimization of factors affecting proliferation and flourishment of *Trichoderma harzianum* in Egyptian soil. *Journal of Basic & Applied Mycology*, 3, 41–48.

Amaria, W., Harni, R., & Samsudin. (2015). Evaluasi jamur antagonis dalam menghambat pertumbuhan *Rigidoporus microporus* penyebab penyakit jamur akar putih pada tanaman karet. *J. TIDP*, 2(1), 51–60. <https://doi.org/10.21082/jtidp.v2n1.2015.p51-60>

Amaria, W., Soesanthi, F., & Ferry, Y. (2016). Keefektifan biofungisida *Trichoderma* spp. dengan tiga jenis bahan pembawa terhadap jamur akar putih *Rigidoporus microporus*. *J. TIDP*, 3(3), 37–44. <http://dx.doi.org/10.21082/jtidp.v3n3.2016.p159-166>

Amaria, W., Taufiq, E., & Harni, R. (2013). Seleksi dan identifikasi jamur antagonis sebagai agens hayati jamur akar putih (*Rigidoporus microporus*) pada tanaman karet. *Buletin RISTRI*, 4(1), 55–64. <https://doi.org/10.21082/jtidp.v4n1.2013.p55-64>

Amaria, W., & Wardiana, E. (2014). Pengaruh waktu aplikasi dan jenis *Trichoderma* terhadap penyakit jamur akar putih pada bibit tanaman karet. *J. TIDP*, 1(2), 79–86. <http://dx.doi.org/10.21082/jtidp.v1n2.2014.p79-86>

Ben-david, A., & Davidson, C. E. (2014). Estimation method for serial dilution experiments. *Journal of Microbiological Methods*, 107, 214–221. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2014.08.023>

Berlian, I., Setyawan, B., & Hadi, H. (2013). Mekanisme antagonisme *Trichoderma* spp. terhadap beberapa patogen tular tanah. *Warta Perakretan*, 32(2), 74–82.

Boggie, L. M., & Person, H. (1988). Plant roots and their environment. Development in agricultural and manage forest. Uppsala Sweden.



- Christopher, D. J., Raj, T. S., Rani, S. U., & Udhayakumar, R. (2010). Role of defence enzymes activity in tomato as induced by *Trichoderma virens* against Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* F. Sp. *Lycopersici*. *Journal of Biopesticides*, 3(1), 158–162.
- Cuervo-parra, J. A., Ramirez-Suero, M., Sánchez-lópez, V., & Ramirez-Lepe, M. (2011). Antagonistic effect of *Trichoderma harzianum* VSL291 on phytopathogenic fungi isolated from cocoa (*Theobroma cacao* L.) fruits. *African Journal of Biotechnology*, 10(52), 10657–10663. <https://doi.org/10.5897/AJB11.1333>
- Fairuzah, Z., Dalimunthe, C. I., Karyudi, Suryaman, & Widhayati, E. E. (2014). Keefektifan beberapa fungi antagonis (*Trichoderma* spp.) dalam biofungisida endohevea terhadap penyakit jamur akar putih (*Rigidoporus microporus*) di lapangan. *Jurnal Penelitian Karet*, 32(2), 122–128.
- Gupta, V. G., Schmoll, M., Herrera-Estrella, A., Upadhyay, R. S., Druzhinina, I., & Touhy, M. (2014). *Biotechnology and Biology of Trichoderma*. Amsterdam, Netherlands - Elsevier Science & Technology.
- Gupta, V., & Sharma, A. K. (2013). Assessment of optimum temperature of *Trichoderma harzianum* by monitoring radial growth and population dynamics in different compost manures under different temperature. *Journal of Biosciences*, 1(2), 151–157.
- Gveroska, B. (2013). Relationships of *Trichoderma* spp. quantity in soil to reducing the dampingoff in tobacco seedlings. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 19(4), 666–674.
- Harni, R., Amaria, W., Syafaruddin, & Mahsunah, A. H. (2017). Potensi metabolit sekunder *Trichoderma* spp. untuk mengendalikan penyakit vascular streak dieback (VSD) pada bibit kakao. *J. TIDP*, 4(2), 57–66. [tp://dx.doi.org/10.21082/jtidp.v4n2.2017.p57-66](http://dx.doi.org/10.21082/jtidp.v4n2.2017.p57-66)
- Hermosa, R., Cardoza, R. E., Rubio, M. B., Gutierrez, S., & Monte, E. (2014). Secondary metabolism and antimicrobial metabolites of *Trichoderma*. *Biotechnology and Biology of Trichoderma*, (February), 115–121. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59576-8.00009-6>
- Khattabi, N., Ezzahiri, B., Louali, L., & Oihabi, A. (2004). Effect of nitrogen fertilizers and *Trichoderma harzianum* on *Sclerotium rolfsii*. *Agronomie*, 24, 281–288. <https://doi.org/10.1051/agro:2004026>
- Kusdiana, A. P. J., Munir, M., & Suryaningtyas, H. (2015). Pengujian biofungisida berbasis mikroorganisme antagonis untuk pengendalian jamur akar putih pada tanaman karet. *Jurnal Penelitian Karet*, 33(2), 143–156.
- Maina, P. K., Wachira, P. M., Okoth, S. A., Kimenju, J. W., & Otupa, M. (2015). Effects of land-use intensification on distribution and diversity of fusarium species in Machakos County, Kenya. *Journal of Agricultural Science*, 7(4), 48–60. <https://doi.org/10.5539/jas.v7n4p48>
- Mukherjee, M., Mukherjee, P. K., Horwitz, B. A., Zachow, C., Berg, G., & Zeilinger, S. (2012). Trichoderma-plant-pathogen interactions: Advances in genetics of biological control. *Indian Journal of Microbiology*, 52(4), 522–529. <https://doi.org/10.1007/s12088-012-0308-5>
- Mukherjee, P. K., Horwitz, B. A., & Kenerley, C. M. (2012). Secondary metabolism in *Trichoderma*: A genomic perspective. *Microbiology*, 158, 35–45. <https://doi.org/10.1099/mic.0.053629-0>
- Mukherjee, P. K., Wiest, A., Ruiz, N., Keightley, A., Moran-Diez, M. E., McCluskey, K., ... Kenerley, C. M. (2011). Two classes of new peptaibols are synthesized by a single non-ribosomal peptide synthetase of *Trichoderma virens*. *Journal of Biological Chemistry*, 286(6), 4544–4554. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.159723>
- Muniappan, V., & Muthukumar, T. (2014). Influence of crop species and edaphic factors on the distribution and abundance of *Trichoderma* in alfisol soils of Southern India. *Acta Botanica Croatica*, 73(1), 37–50. <https://doi.org/10.2478/botcro-2013-0004>
- Nakkeeran, S., Krishnamoorthy, A. S., Ramamoorthy, V., & Renukadevi, P. (2002). Microbial inoculants in plant disease control. *Journal of Ecology*, 14(2), 83–94.
- Okoth, S. A., Okoth, P., & Muya, E. (2009). Influence of soil chemical and physical properties on occurrence of *Trichoderma* spp. in Embu, Kenya. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 11, 303–312. Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/939/93913057006.pdf>
- Omorusi, V., Eguavoen, O., Ogbemor, N., Bosah, B. O., Orumwense, K., & Ijie, K. (2014). Control of white root rot disease in rubber plantations in Nigeria. *International Journal of Microbiology and Immunology Research*, 3(4), 46–51.
- Prasetyo, J., Aeny, T. N., & Suharjo, R. (2009). The correlations between white rot (*Rigidoporus lignosus* L.) incidence and soil characters of rubber ecosystem in Penumbangan Baru, Lampung. *Journal HPT Tropika*, 9(2), 149–157.

- Promwee, A., Issarakraisila, M., Intana, W., Chamswarnng, C., & Yenjit, P. (2014). Phosphate solubilization and growth promotion of rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) by *Trichoderma* strains. *Journal of Agricultural Science*, 6(9), 8–20. <https://doi.org/10.5539/jas.v6n9p8>
- Rajput, A. Q., Khanzada, M. A., & Shahzad, S. (2014). Effect of different substrates and carbon and nitrogen sources on growth and shelf life of *Trichoderma pseudokoningii*. *International Journal of Agriculture & Biology*, 16(5), 893–898.
- Reetha, S., Bhuvaneswari, G., Selvakumar, G., Thamizhiniyan, P., & Pathmavathi, M. (2014). Effect of temperature and pH on growth of fungi *Trichoderma harzianum*. *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences*, 4(4), 3287–3292.
- Santos, B. D. L., Barrau, C., Blanco, C., Arroyo, F., & Porras, M. (2003). Relationship between *Trichoderma* soil populations and strawberry fruit production in previously fumigated soils. *HORTSCIENCE*, 38(7), 1400–1402.
- Singh, A., Shahid, M., Srivastava, M., Pandey, S., Sharma, A., & Kumar, V. (2014). Optimal physical parameters for growth of *Trichoderma* species at varying pH, temperature and agitation. *Virology & Mycology*, 3(1), 1–7. <https://doi.org/10.4172/2161-0517.100012>
- Sriram, S., Roopa, K. P., & Savitha, M. J. (2011). Extended shelf-life of liquid fermentation derived talc formulations of *Trichoderma harzianum* with the addition of glycerol in the production medium. *Crop Protection*, 30(10), 1334–1339. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.06.003>
- Sundaramoorthy, S., & Balabaskar, P. (2013). Biocontrol efficacy of *Trichoderma* spp. against wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 1(3), 36–40. <https://doi.org/10.7324/JABB.2013.1306>
- Suwandi. (2008). Evaluasi kombinasi isolat *Trichoderma* mikoparasit dalam mengendalikan penyakit akar putih pada bibit karet. *J. HPT Tropika*, 8(1), 55–62.
- Thomas, P., Sekhar, A. C., Upreti, R., Mujawar, M. M., & Pasha, S. S. (2015). Optimization of single plate-serial dilution spotting (SP-SDS) with sample anchoring as an assured method for bacterial and yeast cfu enumeration and single colony isolation from diverse samples. *Biotechnology Reports*, 8, 45–55. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2015.08.003>
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Woo, S. L., Nigro, M., Marra, R., ... Lorito, M. (2014). *Trichoderma* secondary metabolites active on plants and fungal pathogens. *The Open Mycology Journal*, 8(1), 127–139. <https://doi.org/10.2174/1874437001408010127>
- Wirawan, A. E., Djauhari, S., & Sulistyowati, L. (2014). Analisis perbedaan pengaruh penerapan sistem PHT dan konvensional terhadap kenanekaragaman *Trichoderma* spp. pada lahan padi. *Hama Penyakit Tumbuhan*, 2(3), 66–73.
- Zehra, A., Dubey, M. K., Meena, M., & Upadhyay, R. S. (2017). Effect of different environmental conditions on growth and sporulation of some *Trichoderma* species. *Journal of Environmental Biology*, 38(2). <https://doi.org/10.22438/jeb/38/2/MS-251>